

N° 59
281



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

COMPARACION DE LAS TECNICAS
SEROLOGICAS DE INMUNOFLUORESCEN-
CIA INDIRECTA Y ELISA PARA LA DETER-
MINACION DE ANTICUERPOS ANTI-
Toxoplasma.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
YOLANDA GONZALEZ MENDOZA



MEXICO, D. F.

1992

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO.

- I. INTRODUCCION.**
- II. GENERALIDADES.**
- III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**
- IV. HIPOTESIS.**
- V. OBJETIVO.**
- VI. MATERIAL Y METODOS.**
- VII. RESULTADOS.**
- VIII. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.**
- IX. CONCLUSIONES.**
- X. RESUMEN.**
- XI. BIBLIOGRAFIA.**

I. INTRODUCCION.

LA TOXOPLASMOSIS es la parasitosis producida por un protozooario cosmopolita: *Toxoplasma gondii*, que se transmite al hombre de diversas maneras y con frecuencia por la contaminación de agua y alimentos con materia fecal del gato o por el consumo de carnes crudas o semicocidas de diversos animales (1,5).

Esta zoonosis es de gran importancia, ya que se encuentra catalogada como la más ampliamente distribuida en el mundo, no tiene predominio de raza, edad o área geográfica (6). Así lo indica la elevada prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*; en general las cifras están entre 30 y 60 % de la población mundial. En América Latina se encuentran infectadas alrededor del 50 a 60 % de las personas de 20 a 30 años, prácticamente todas son asintomáticas (9).

En México se ha observado igualmente una alta positividad en humanos. En estudios recientes realizados en el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE) se observa que en los Estados de Tabasco, Campeche y Colima la positividad es mayor del 60 % (37, 38).

Según los estudios realizados por Feldman, se ha calculado que anualmente de 0.3 a 1 % de la población susceptible se infecta con *Toxoplasma gondii*, lo que implica la existencia de 200 000 a 700 000 casos nuevos de toxoplasmosis por año en nuestro país (8). El principal problema médico es el riesgo perinatal: aproximadamente 30 % de los fetos pueden adquirir la infección en útero con una amplia gama de signos clínicos (8).

Desde el primer caso de toxoplasmosis humana observado por Carini y Maciel en 1913 en cortes de retina de un recién nacido, se inició el estudio de la patología de esta zoonosis, encontrándose con las subsecuentes investigaciones que este coccidio podía parasitar casi cualquier órgano susceptible a la infección, causando diversos signos y síntomas clínicos que pueden oscilar desde los no graves e incluso asintomáticos hasta aquellos que causan la muerte: como la meningoencefalitis, el aborto en mujeres embarazadas o malformaciones congénitas en el feto (1, 3, 6, 12).

Dada la gran magnitud y trascendencia de esta parasitosis es de vital importancia contar con las mejores técnicas de diagnóstico para *Toxoplasma gondii*, ya que la oportuna y correcta detección del parásito es importante para la prevención de casos graves de este padecimiento.

Sin embargo, hoy en día no se conocen totalmente las posibles correlaciones entre las técnicas más empleadas para el diagnóstico de dicha enfermedad, lo que llega a ser de gran importancia en ciertos casos.

II. GENERALIDADES.

ANTECEDENTES HISTORICOS.

El agente causal, *Toxoplasma gondii*, fue descubierto por Nicolle y Manceaux (1908) en el hígado y bazo de un pequeño roedor *Ctenodactylus gundi*, que se había mantenido durante cierto tiempo en el Instituto Pasteur de Túnez. Visto retrospectivamente, es probable que la infección fuera adquirida de gatos que habitaron también en dicho centro (Wenvon, 1926) (12).

Al principio se consideró que el organismo era una especie de *Leishmania*, pero un año después, tras haber sido estudiado con mayor profundidad, se reconoció como un parásito diferente y se creó el nuevo género *Toxoplasma*. Pronto se vio que esta especie tenía una distribución universal y era polixeno, ya que existen comunicaciones de infección en más de 200 especies de aves y mamíferos, incluso el hombre (perros, conejos, minks, ratas, canguros, felinos, aves domésticas y silvestres, cerdos, ovinos, cuervos, etc.) (2, 12, 20, 21, 22, 23, 45).

Splendore en 1908 y Carini en 1909 lo encontraron en el conejo y lo llamaron *Toxoplasma cuniculi*. En 1908 Darling publicó un caso que presentó síndrome febril, cefalea, rigidez muscular y un estudio microscópico de quistes de protozoarios, que identificó

como sarcosporídeos. Chávez Carballo opinó que se trató probablemente de la primera descripción de las manifestaciones clínicas de la enfermedad; y Kean y Grocott plantearon la probabilidad de que los microorganismos descritos fuesen en realidad toxoplasmas (2, 20, 21, 23, 45).

Carini y Maciel en 1913 fueron los primeros en observarlo en el humano en cortes de retina de un recién nacido. En 1935 Wolf, Cowen y Parge en New York, lograron aislarlo de un recién nacido con meningoencefalitis y dijeron que la vía transplacentaria fue el vehículo a través del cual llegó el parásito al feto (19).

En 1965 Hutchison hizo la observación de que, cuando los gatos comían ratones infectados por *Toxoplasma*, la infección podía volver al ratón a través de las heces de gato, incluso tras su conservación en agua durante un año o más (Work, 1921) (2, 12, 25).

En 1948 Sabin y Feldman dieron a conocer el descubrimiento de una prueba serológica de gran especificidad, para diagnosticar esta enfermedad y medir la intensidad de la actividad inmunitaria del suero humano y animal. En la actualidad esta prueba se conoce como prueba tintoreal (dye-test) de Sabin y Feldman. En este mismo año Frenkel elaboró un antígeno al que le dio el nombre de toxoplasmina y con él se pudo realizar una

prueba intradérmica. Actualmente se utiliza con reservas ya que puede dar falsos positivos y negativos y solo se recomienda para encuestas epidemiológicas (2, 20, 21, 22).

Posteriormente a la prueba tintoreal se publicaron otras técnicas serológicas, entre las que destacan: la prueba de fijación de complemento, introducida por Nicolau y Revelo; la prueba de hemaqlutinación pasiva de Lunde y Jacobs, la prueba de látex sensibilizado de Garin y Despeignes, la prueba de anticuerpos inunofluorescentes de O'Conor, la prueba de inunofluorescencia indirecta introducida por Kalen y Goldman. Esta técnica desplazó a todas las anteriores, especialmente a la prueba tintoreal, por su gran valor práctico y por su bajo riesgo (1, 7, 8, 13, 21).

Durante 1950-1970 se estudiaron diversos aspectos de transmisión, diagnóstico y tratamiento, y a partir de 1969 se empezó a conocer el ciclo biológico completo de este protozoo. gracias a los trabajos que simultáneamente llevaron a cabo varios investigadores, motivados por las tesis de Hutchison, donde se postulaba que el parásito era transportado dentro de los huevecillos de *Toxocara*, aclarando posteriormente que el gato es el huésped definitivo puesto que en él se lleva a cabo la fase sexual de reproducción del protozoo (2, 12).

En México, las primeras observaciones sobre *Toxoplasma gondii* fueron hechas por Mooser (1929) y Parada Gay (1932), en exudado peritoneal de cobayos (1).

El primer diagnóstico de toxoplasmosis fue notificado por Palomino Dena (1950) en un niño de 11 meses de edad, el cual estaba internado en el Hospital Infantil de México (1).

Roch y Varela (1968) efectuaron diversos estudios en pacientes con afecciones oculares y títulos positivos a *Toxoplasma gondii* y su convivencia con animales infectados (gatos, perros, cerdos, conejos), distribución geográfica, etc. (1, 5, 6).

MORFOLOGIA

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obliquo, en el hombre y en los animales superiores tiene predilección por las células altamente diferenciadas abarcando prácticamente a todas las células de la economía.

Tiene 3 formas que son importantes desde el punto de vista patoquénico y epidemiológico:

1) Trofozoíto (taquizoíto o forma proliferativa), en el cual el parásito se divide activamente.

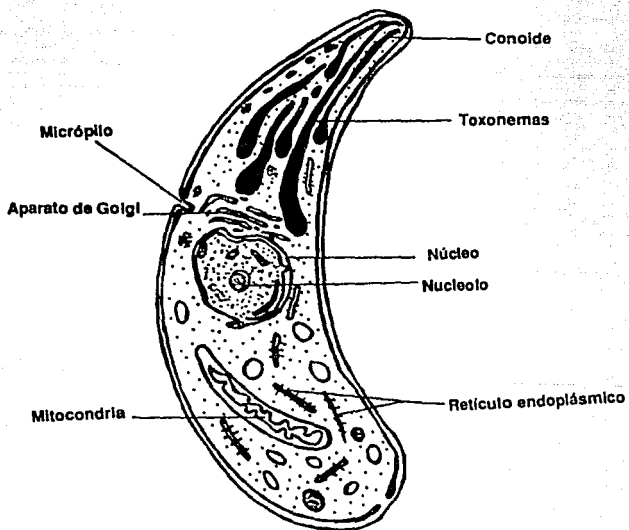
2) Quiste, de localización tisular en el huésped intermediario. Constituido por organismos que se multiplican lentamente, a los que se les llama bradizoítos.

3) Ooquiste, forma que elimina el gato en sus heces fecales. Se disemina ampliamente en la naturaleza y puede contaminar los alimentos y el agua. (2. 7. 12. 13. 23. 27. 44).

Estas 3 formas del parásito tienen capacidad infectante bajo condiciones diferentes. El quiste es a través de ingestión de carne cruda o mal cocida. El ooquiste por la ingestión de cualquier alimento contaminado con la materia fecal del gato. El trofozoíto, debido a su labilidad a los cambios ambientales, requiere condiciones especiales que faciliten su arribo a otro huésped, se considera que la vía transplacentaria es la más frecuente para esta fase parasitaria (2. 7. 11. 18).

Trofozoíto. Es la forma vegetativa del *Toxoplasma gondii*. Tiene forma ovalada, ligeramente arqueada, con uno de sus extremos terminales en punta y el otro redondeado. Mide de 4-8 micras de longitud y de 2-4 micras de ancho. El núcleo está localizado en el centro. El citoplasma contiene el aparato de Golgi, ribosomas, retículo endoplásmico rugoso y mitocondrias. Carece de organelos de locomoción y sus desplazamientos los hace por flexión del cuerpo. Se tinte fácilmente con Giemsa o Wright. El trofozoíto es intracelular obligado, pero se desconoce cuáles son las causas precisas de esta relación ya que en el ambiente extracelular puede llevar a cabo síntesis de RNA y DNA. Sin embargo no sobrevive a la desecación, o al efecto de los jugos digestivos. El parásito penetra a las células de cualquier tejido gracias a los factores mecánicos y enzimáticos que modifican la membrana de la célula huésped. en su interior es faocitado por una vacuola iniciando su división por poliendogenia (reproducción asexual que consiste en la formación de las células hijas dentro de la célula madre), hasta llenar la célula parasitada y constituir un paso previo a la formación de un quiste. Los trofozoítos invaden las células nucleadas del huésped. en especial las del sistema reticuloendotelial (2, 5, 23, 28, 29).

Trofozito de *Toxoplasma gondii*



Quieste. La formación de esta fase del parásito depende generalmente de la inmunidad desarrollada por el huésped, pero también se ha observado en animales inmunodeprimidos así como en cultivo de tejidos. Los quistes persisten por largos períodos de tiempo en los tejidos y caracterizan el estado crónico de la infección. Su tamaño depende del número de parásitos que contenga, varía de 50 a 200 micras, tienen una membrana argirofílica, son esféricos cuando se localizan en cerebro u otro órgano y adoptan la forma alargada en el tejido muscular y el corazón (2, 5, 7, 13, 23, 29).

Ooquiste. Resulta del ciclo sexual que tiene lugar en el epitelio intestinal del gato. Son esféricos u ovalados y miden en promedio 12 micras de largo por 11 de ancho. Se encuentran en las heces del huésped definitivo entre el 3^o y 5^o día, cuando la infección se ha producido con quistes. Si es con trofozoítos a los 7-10 días, y con ooquistes procedentes de otros gatos después de 20 a 24 días. El número de ooquistes eliminados en la materia fecal puede llegar hasta 10 millones diariamente por períodos de 20 días. Son muy resistentes a las condiciones ambientales y representan una fase muy importante para la diseminación de *Toxoplasma gondii* en la naturaleza. En condiciones ambientales adecuadas representan una división por esporulación (2, 5, 7, 13, 23, 29).

CICLO BIOLÓGICO.

El gato se infecta en la naturaleza principalmente a través de la ingestión de quistes que existen en la carne de otros animales. Los esporozoítos liberados de los ooquistes o de los trofozoítos que salen de la forma quística al ser disuelta su membrana por los jugos digestivos, llegan al intestino del gato, penetran a las células epiteliales e inician su división asexual por esquizoqonia que dará lugar a los merozoítos. Después de varios ciclos reproductivos que ha ido extendiendo la infección por todo el intestino del felino, algunos merozoítos evolucionan hacia microgametocitos (machos), o macrogametocitos (hembras). Entre ellos se realiza una reproducción sexual que dará lugar a la formación de los ooquistes, formas resistentes que serán expulsadas a través de las heces del felino parasitado. Para que estos ooquistes sean infectantes tienen que presentar una división por esporulación que se produce en el exterior a los 2 o 3 días de expulsados (2, 7, 12, 23, 27).

HUESPEDES INTERMEDIARIOS.

Están constituidos por múltiples animales (entre ellos, el hombre) y las aves. La multiplicación se realiza de forma asexuada, por poliendogamia. Los huéspedes y en particular el hombre se infectan normalmente por vía digestiva al ingerir quistes que tienen bradizoftos u ooquistes esporulados que tienen esporozoítos (1.7).

HUESPEDES DEFINITIVOS.

Son el gato y otros felinos (gato montés, lince, ocelote, puma, etc.). En ellos, el *Toxoplasma gondii* se reproduce por esquizogamia (asexuada) y gametogamia (sexuada). Se infectan por ingestión de quistes esporulados (bradizoftos), ooquistes (esporozoítos) y rara vez, taquizoítos (1.7).

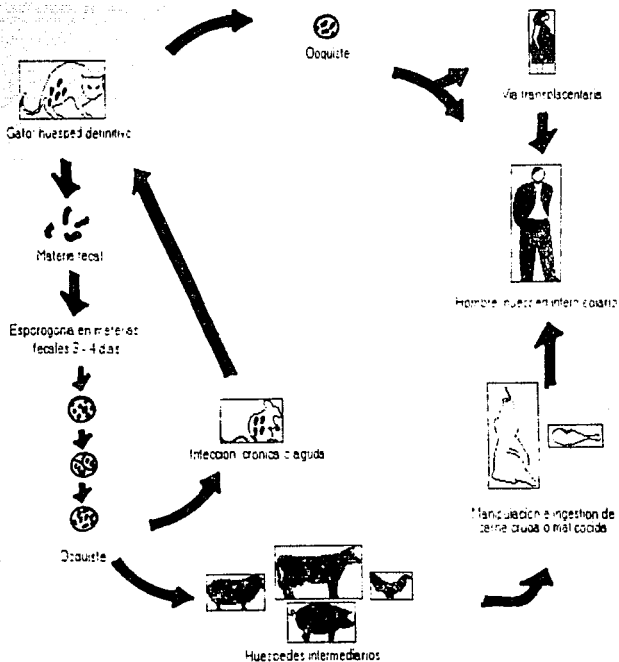
RESERVORIOS.

Más de 300 especies de mamíferos y unas 30 de aves padecen la enfermedad. Entre los mamíferos salvajes, el reservorio comprende fundamentalmente los roedores (ratas, ratones, conejos, etc.). Ocasionalmente también pueden compararse como tales el mono, zorro, ciervos, etc. Pero sin duda los más importantes, sobre todo por los

hábitos dietéticos humanos, son los animales de abasto (ovinos, bovinos, suidos, caprinos). Hay que considerar aquellos animales domésticos que están en contacto con el hombre; especialmente el perro, pero sobre todo el gato (1, 7).

Las aves de mayor riesgo son las domésticas o peridomésticas (gallina, pollo, paloma, pato). También se han comprobado parasitaciones de aves silvestres, pero su significado epidemiológico es escaso (7).

CICLO BIOLÓGICO DE TOXOPLASMA GONDII



CUADRO CLINICO DE LA TOXOPLASMOSIS.

Las manifestaciones clínicas de la Toxoplasmosis en el hombre depende de la edad del individuo.

Presenta un período de incubación de 3 a 5 días o más. En niños mayores y adultos la infección puede pasar inadvertida o haber ligera linfadenopatía acompañada de fiebre, astenia, cefalea, mialgias y artralgias, coexistiendo con poliadenitis de predominio cervical, occipital y supraclavicular. Puede presentarse también: exantema maculopapular en el tronco, cuero cabelludo y eritema nudoso (2, 22, 23, 28, 44, 45, 46).

Algunas manifestaciones generales como coriorretinitis, encefalitis, miocarditis, hepatitis, nefritis y colitis son poco frecuentes. La neurotoxoplasmosis frecuentemente va precedida de los siguientes signos de alarma: estado gripal, polialgia, daño ocular y cambios psíquicos. Las formas meningoencefálicas se manifiestan por cefalea, vómito, somnolencia y convulsiones. Tal cuadro puede evolucionar a coma y muerte (2, 23, 28, 44, 47).

Cuando se administran inmunosupresores, puede brotar repentinamente una infección crónica latente y causar daño tisular extenso y mortal, o producir síntomas graves incluyendo los mencionados anteriormente. Las

lesiones oculares son extremadamente difíciles de tratar. Por estas razones, en pacientes que tengan anticuerpos para toxoplasma, el tratamiento inmunosupresor debe realizarse con gran precaución (2, 28, 44).

FORMAS CLINICAS DE LA TOXOPLASMOSIS.

TOXOPLASMOSIS CONGENITA. Su causa es una toxoplasmosis materna, generalmente asintomática, sufrida durante el embarazo. No siempre que la madre padece una toxoplasmosis se afecta al feto. La infección fetal se produce en un tercio de las infecciones maternas. El riesgo es mayor cuando más agudo es el cuadro y sobre todo si aparece en el tercer trimestre del embarazo. La infección precoz produce normalmente el aborto, y la tardía origina partos prematuros o nacimientos a término de niños con infección; ésta puede no manifestarse en el momento del nacimiento.

En relación con la edad fetal en que tuvo lugar el contagio, existen las siguientes posibilidades de expresión clínica al nacer:

- 1) Si la infección fetal fue precoz y no se produce el aborto, el recién nacido presenta secuelas importantes que constituyen la triada de Sabin:

hidrocefalia, calcificaciones intracraneales y coriorretinitis. No obstante, existen formas monosintomáticas, de las cuales la más frecuente es la retinocoroiditis bilateral. A veces aparecen convulsiones, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía, rash, anormalidades en líquido cefalorraquídeo (niveles altos de proteínas) y fiebre.

2) Si el feto se infectó más tardíamente, el niño nace con signos de encefalitis o encefalomiелitis. Suele existir hidrocefalia (macro o microcefalia), retinocoroiditis bilateral, retraso psicomotor y convulsiones.

3) En las infecciones tardías que se producen en el último trimestre del embarazo, el niño al nacer presenta signos de infección generalizada con miocarditis, neumonitis, hepatoesplenomegalia, ictericia, peso subnormal, prematuridad y exantema. La exploración del glóbulo ocular puede ser normal o demostrar disminución en la transparencia del humor acuoso.

Sin embargo, lo más común es que el niño al nacer no refleje signos o síntomas de toxoplasmosis. En unos casos, la infección permanecerá asintomática toda la vida. En otros, meses o años más tarde aparecen retinocoroiditis bilateral, a veces necrotizante; estrabismo, ataques epilépticos, retraso psicomotor e

incluso ceguera. Las manifestaciones, que normalmente se producen en adolescentes y jóvenes, son debidas, por lo tanto, a la reactivación de una toxoplasmosis congénita, asintomática hasta entonces. (1, 2, 3, 6, 7, 12, 13, 18).

TOXOPLASMOSIS ADQUIRIDA. La toxoplasmosis adquirida después del nacimiento puede ser:

1) Ganglionar. Reconocida como la forma de toxoplasmosis más frecuente en el adulto, consiste en adenopatía que involucra ganglios superficiales, principalmente cervicales, suboccipitales, supraclaviculares, axilares e inguinales. Puede también afectar ganglios mediastinales y retroperitoneales. Esta adenopatía se acompaña de malestar general, fiebre, dolor de cabeza, mialgias, y en algunos casos, hepatoesplenomegalia. En la biometría hemática se observa linfocitosis con linfocitos atípicos.

2) Generalizada. A la forma ganglionar no solamente se agregan hepato y esplenomegalia sino manifestaciones de miocarditis, neumonitis y miositis; que es rara en el adulto normal y más frecuente en inmunodeprimidos, donde además hay compromiso encefálico expresado por confusión que puede llegar al estado de coma, hipertensión intracraneana, reflejos osteotendinosos alterados y manifestaciones de focalización como

convulsiones, parestias o parálisis.

3) Ocular. Se considera que la forma de toxoplasmosis ocular en el adulto casi siempre se debe a secuelas de una infección adquirida en el útero, pero se han podido demostrar algunos casos de infección posterior. El parásito y sus productos originan hipersensibilidad y reacción inflamatoria responsables de uveítis anterior y coriorretinitis. (1, 2, 6, 7, 12).

MECANISMO DE TRANSMISION.

La infección humana normalmente se produce por quistes u oocistas. El taquizoíto puede eliminarse por saliva, leche, orina, etc., pero es extremadamente lábil en el medio ambiente y muy sensible a desinfectantes y ácido clorhídrico. Existen varias posibles vías de entrada al organismo (2, 6, 7).

VIA DIGESTIVA.

La ingestión del quiste u oocistas, por ser resistentes al ácido clorhídrico, es el principal mecanismo de transmisión. La ingestión de carne cruda o

semicocida, portadora de quistes, es extraordinariamente peligrosa. Las carnes cocidas, conservadas (salazón, ahumado, congelación) o por refrigeración no suelen ser infectantes. El quiste llega por vía digestiva de forma directa (objetos contaminados) o indirecta, ya que los ooquistes salen por las heces de gato, contaminan el suelo y, si encuentran condiciones apropiadas de humedad, temperatura de 25 °C y oxígeno suficiente, esporulan y mantienen su viabilidad. El agua o alimentos contaminados son su vehículo inmediato (2, 6, 13).

VIA PLACENTARIA.

Se produce por taquizoítos en un tercio o menos de las mujeres embarazadas que padecen una infección aguda. El riesgo de infección intrauterina dependerá del trimestre del embarazo en el cual la madre adquiere la toxoplasmosis. Si ésta ocurre durante el primer trimestre la proporción es del 17 %, aumenta a 25 % en el segundo y a 65 % en el tercero. Pero los síntomas son más graves si la infección se origina en el primer trimestre. Una mujer positiva antes del embarazo está exenta de riesgo para una nueva infección y por supuesto para el producto en útero en casos de embarazo. Es un error suponer que la presencia de títulos altos de anticuerpos antitoxoplasma son responsables de abortos de repetición, esterilidad o riesgo de embriopatía en el embarazo (2, 3, 6, 7).

VIA PARENTERAL.

Se han descrito casos humanos por transfusión de sangre, leucocitos o trasplantes de órganos infectados. Las formas que se transmiten son los taquizoítos. Son posibles, y así lo prueban experiencias del laboratorio: mucosa (conjuntival) y cutánea. Esta última suele ser debida a manipulación de carnes parasitadas (2, 7, 12, 48).

EPIDEMIOLOGIA.

La prevalencia de toxoplasmosis humana varía mucho de unos países a otros, e incluso de una zona geográfica a otra dentro de un mismo país. Sin embargo es mucho más frecuente en las regiones húmedas y cálidas que en las frías y secas.

Se ha observado que el carnivorismo, si la carne consumida está cruda o semicocida, se asocia a seroconversión positiva que puede llegar hasta 100 %. Los cerdos y carneros son animales que presentan un mayor riesgo para la infección humana.

Por las pruebas del laboratorio se sabe que los quistes del parásito mueren cuando son sometidos a

temperatura de -90°C o -20°C por lo menos durante 2 ó 4 horas, pero es más seguro destruirlos por calentamiento de 66°C .

Otros factores que están en relación con la prevalencia de la toxoplasmosis son: el clima, altitud sobre el nivel del mar, hábitos de alimentación, susceptibilidad al desarrollo de la infección y convivencia con gatos. En algunos estudios se ha concluido que las reacciones serológicas positivas son más comunes en humanos y animales que viven en asociación con gatos que en aquellos donde estos animales faltan. En la población general el número de seropositivos aumenta en relación directa con la edad, como resultado de la exposición continua al riesgo de infección por el consumo de carne cruda o poco cocida, o la ingestión de oocistos introducidos en el medio ambiente por gatos (2, 5, 6, 12, 22, 28, 32).

Por lo que se refiere al sexo no hay diferencias significativas en la población general, tampoco se ha podido encontrar relación clara entre la ocupación de los individuos y la parasitosis, sin embargo se identifican como grupos de riesgo los manipuladores de alimentos, entre éstos las amas de casa, trabajadores de rastros y veterinarios (1, 2, 7, 22, 32).

En estudios seroepidemiológicos realizados desde 1952 hasta 1986 en varios países del mundo se dan a conocer seropositividades que van desde el 13 % en Berlín Este hasta el 93 % en el Salvador (35).

La infección asintomática del hombre y los animales por *Toxoplasma gondii* es común en el continente americano. Así lo indica la elevada prevalencia de anticuerpos contra dicho protozoario, que en América Latina generalmente se encuentran del 50 al 60 % de las personas de 20 a 30 años, las cuales son asintomáticas. De manera análoga, las encuestas serológicas han revelado la presencia de anticuerpos en animales normales (9).

La prevalencia de toxoplasmosis humana en algunos países es de: 52 % en Kenya; 50 % en Estados Unidos en forma asintomática crónica; 68 % en Tahití; 65 % en Honduras; 36 % en Haití; 11 % en Islandia; 0 % Polo Norte; 25 % en Canadá; 53 % en Venezuela; 67 % en Chile; 25 % en Países Escandinavos; 80 % en Francia; 18.4 % en Sao Paulo, Brasil; 90 % en la Isla de Pascua y por último, en los estudios recientes hechos en México, se encontró 55 % en la Zanja Guerrero; 65 % en Oaxaca; 60 % en Tabasco. (20, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38).

PATOGENIA.

El mecanismo etiopatogénico de la enfermedad acontece según los pasos siguientes; las formas infectantes del *Toxoplasma gondii* (quistes y ooquistes), penetran al paciente por vía oral. éstos sobreviven a la digestión gástrica y liberan los trofozoítos en el lumen intestinal. Muchos de éstos alcanzan la circulación sistémica por vía transintestinal, donde los fagocitos y anticuerpos inespecíficos rinden cuentas de una gran parte de los mismos. En esta etapa suelen presentarse síntomas generales o estar ausentes (21).

Los toxoplasmas que no son atrapados o destruidos invaden cualquier célula de los tejidos humanos, con excepción de los eritrocitos, ayudados por una enzima cuya caracterización química no se ha precisado, pero a la que se denomina "factor facilitador de la penetración".

La liberación posterior del parásito propicia la invasión a otras células y diseminación por vía hematogena. La sintomatología obedece a la reacción inflamatoria y a fenómenos de hipersensibilidad consecutivos a la destrucción celular, más evidentes en el sistema nervioso central y glóbulo ocular (2).

INMUNIDAD.

La inmunidad humoral se muestra eficaz sólo sobre los taquizoítos circulantes o libres y durante los dos primeros meses de la enfermedad. No obstante, el efecto protector es escaso, pues, aunque in vitro los anticuerpos favorecen la ingestión y digestión del parásito por los macrófagos, in vivo no parecen proteger frente a la reinfección, como lo prueban los ensayos realizados con suero inmune y la vacunación con ayuda del complemento, que lisan los toxoplasmas extracelulares pero no pueden actuar contra los microorganismos que se multiplican dentro de una gran variedad de células, entre ellas fibroblastos, células musculares, neuronas y células hepáticas.

La inmunidad celular es más importante por constituir el principal mecanismo de resistencia aparente. Esta juega un papel importante para evitar la reinfección y se debe a la activación de los macrófagos. La existencia de inmunidad celular puede demostrarse por pruebas cutáneas, reacciones de inhibición de la migración de los macrófagos (MIF) y transformación blástica de los linfocitos. (2, 5, 6, 9, 13, 37).

TRATAMIENTO.

Es efectivo sólo en la fase proliferativa del ciclo del parásito, es decir, cuando los trofozoitos son abundantes en la forma aguda de la enfermedad. Muy poco útil contra los quistes, es decir, en las fases crónicas o de secuelas.

Se utilizan comúnmente 2 medicamentos: la sulfadiazina y la pirimetamina que actuando sinérgicamente inhiben el metabolismo del ácido fólico.

La sulfadiazina se administra a razón de 2-3 g por día en adulto, y 100 mg por kg de peso por día en niños. La dosis diaria se divide en 6 tomas, durante 6 semanas. La sulfadiazina compete con el PABA (ácido P-aminobenzoico, que es parte de la molécula del ácido fólico) por la enzima dihidropteroatón sintetasa en el parásito, en consecuencia inhibe la síntesis de DNA y RNA; por lo tanto, el crecimiento y multiplicación del parásito. Simultáneamente se administra la pirimetamina a razón de 25 mg por día en el adulto y, 1 mg por kg de peso por día en el niño durante 21 días. La Pirimetamina inhibe por competencia la reductasa de hidrofolato del parásito y bloquea, en consecuencia, la producción de ácido tetrahidrofólico y por lo tanto del DNA.

Se debe realizar cuenta de plaquetas y glóbulos blancos dos veces por semana. Para neutralizar el efecto antifólico en la médula ósea se administran 3-10 mg por día. de ácido folínico, que a diferencia del ácido fólico no disminuye el efecto terapéutico. (2, 13, 21, 23, 28, 29, 44).

PREVENCIÓN

-Evitar el consumo de carne cruda. El mejor método para los quistes es cocer bien los alimentos ya que el parásito no resiste temperaturas superiores a 66 °C.

-Aseo de las manos después de manipular la carne cruda.

-Eliminar deyecciones de los gatos tan pronto como éstos las depositen en el suelo.

-Lavar adecuadamente las frutas y verduras antes del consumo.

-Evitar que las cucarachas, moscas u otros insectos coprófagos tengan contacto con los alimentos. Existe la posibilidad de que sirvan de vehículo al parásito.

-Evitar transfusiones de sangre, leucocitos o trasplantes de órganos si en el donador existen anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*.

-Las mujeres embarazadas y niños deben evitar la exposición con gatos que pueden estar infectados.

-En toda mujer en edad de gestar debería hacerse un estudio serológico y controles posteriores durante el embarazo, para detectar posibles seroconversiones. En caso que los títulos fueran en aumento desde la gestación hasta el primer trimestre del embarazo algunos autores recomiendan el aborto terapéutico. (1, 2, 5, 7, 12, 18, 35).

DIAGNOSTICO.

DIRECTO. Es poco empleado por proporcionar resultados bastante pobres. La mayor parte de las veces se utilizan técnicas y procedimientos laboriosos y lentos.

Muestras. Son válidas: exudados, líquidos corporales (cefalorraquídeo, peritoneal, amniótico), sangre y tejidos (pulmonar, muscular, cerebral, ocular, nódulos linfáticos) obtenidos por biopsia, o procedentes de autopsia en caso de fallecimiento. Lo ideal es procesar

la muestra rápidamente; si es necesario, se puede conservar una noche a 4 °C. Nunca deben ser congeladas o tratadas con formol. Las reacciones de contrainmunolectroforesis y ELISA pueden emplearse para la búsqueda de antígeno en suero, líquido amniótico y líquido cefalorraquídeo.

EXAMEN MICROSCOPICO. Los cortes histológicos o el sedimento de los líquidos orgánicos se tiñen con el método de Giemsa o la técnica de Wright para ser observados al microscopio y detectar la presencia de taquizoítos u ooquistes tisulares. Para la detección de quistes puede emplearse también el reactivo de Schiff. Los resultados del estudio casi nunca son concluyentes, ya que incluso en los cortes histológicos con frecuencia se altera la morfología del *Toxoplasma gondii*, disminuye su tamaño y puede confundirse con artefactos u otros parásitos (*Leishmania*, *Trypanosoma*, *Histoplasma*, *Candida*).

AISLAMIENTO. Es el procedimiento más confiable, pero es lento y no está al alcance de todos los laboratorios. Aunque puede recurrirse a la inoculación en embrión de pollo o cultivos celulares, lo mejor es la inoculación en animal de experimentación. Se emplea el ratón o ratas blancas jóvenes, que al ser inoculados por vía subcutánea, intracerebral o mejor intraperitoneal,

sufrirán una toxoplasmosis generalizada. El parásito se detectará en líquido peritoneal a las dos semanas; 4 ó 6 semanas más tarde pueden observarse quistes en cerebro y anticuerpos específicos circulantes.

Las positividades que se obtengan a partir de líquidos orgánicos o sangre inoculados, manifiestan a los parásitos como exponentes de las fases agudas de la enfermedad. en tanto que las obtenidas por inoculación de tejidos reflejan una infección aguda o bien una infección latente (existencia de quistes tisulares).

INDIRECTO. Es el más empleado, dados la laboriosidad y errores que proporciona el diagnóstico directo. No obstante. las pruebas serológicas presentan algunos inconvenientes. tales como su insuficiente estandarización, dificultades de interpretación y el escaso resultado que proporcionan en infecciones latentes. Lo ideal es emplear simultáneamente dos pruebas y es necesario. además, realizar dos determinaciones serológicas. en distintos tiempos de la evolución clínica. ya que la cinética de los anticuerpos es extraordinariamente útil. Las pruebas más empleadas son:

REACCION DE SABIN Y FELMAN (dye-test). Llamada también prueba con azul de metileno o prueba tintoreal; es sensible y específica, tiene como inconveniente el uso de toxoplasmas vivos, lo que presenta un riesgo para el operador y una necesidad constante de ratones viables (no infectados con *Toxoplasma*) para el abasto. Los organismos obtenidos del exudado peritoneal de ratón, lavados en amortiguador de fosfatos frío o incluso pasado en columna, se incuban con suero del paciente y suero de cobayo que contiene el "factor accesorio" que es el sistema complemento-properdina; durante una hora a 37 °C. al agregar azul de metileno alcalino a la suspensión, se pueden observar hinchados y teñidos de azul. Cuando los parásitos se exponen a suero que contenga anticuerpos antitoxoplasma bajo las mismas condiciones, la observación permite comprobar la lisis e imposibilidad de tinción de los organismos. El mecanismo de acción es la unión de los anticuerpos (Iq G) a la superficie de la membrana, ampliado por los factores del complemento que conduce al distorsión y muerte de los microorganismos.

El título se informa a partir de la observación del 50 % o más de los organismos teñidos, esa dilución representa la máxima requerida para esa proporción. Lo mismo puede obtenerse sin azul de metileno, contando a qué dilución se obtiene 50 % de organismos lisados y no lisados al observarlos bajo microscopía de contraste de fase. Habitualmente se considera prueba positiva cuando

los parásitos se tifican a la dilución igual o mayor a 1:16. Actualmente Frenkel considera que todo título mayor o igual a 1:2 es positivo y debe correlacionar con el cuadro clínico. Esta prueba produce escasos falsos positivos y no da falsos negativos.

INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI). Tiene la misma sensibilidad y especificidad que la prueba tintoreal (dye-test). No requiere organismos vivos, se utilizan toxoplasmas muertos preparados en portaobjetos e incubados con las diluciones seriadas del suero problema del paciente, tratando de aprovechar la presencia de sitios receptores para anticuerpos del suero probado: si la unión específica se lleva a cabo, puede ser reconocida indirectamente al utilizar antigamaglobulina humana conjugada con fluoresceína. Se pueden dar resultados falsos positivos ocasionados por la presencia de anticuerpos antinucleares y factor reumatoide, y en pacientes con enfermedades del tejido conectivo y autoinmunes. El conjugado comercial está constituido fundamentalmente de anti-IgG. Se puede detectar también IgM con un conjugado anti-IgM, esta detección se ha empleado para interpretar en forma precoz las infecciones adquiridas recientes y las infecciones congénitas.

PRUEBA DE HEMAGLUTINACION INDIRECTA (HAI). En esta prueba no se utilizan toxoplasmas vivos; se trata de observar la hemaqlutinaçión por la presencia de anticuerpos al utilizar como sistema indicador qlóbulos rojos tanados o glutaraldehizados y sensibilizados con productos de *Toxoplasma gondii*. El sitio receptor es diferente al de la prueba tintoreal. los anticuernos aparecen semanas después de ésta. y los títulos. en cambio, son mavores y permanecen así más tiempo que los de la prueba tintoreal. Con estos datos se puede concluir que es una prueba con limitantes para el diagnóstico de infección aguda y neonatal transplacentaria.

PRUEBA DE FIJACION DEL COMPLEMENTO (FC). El antígeno empleado en esta prueba no se ha estandarizado, cada investigador tiene uno distinto y difícilmente se pueden reproducir los resultados. Los anticuerpos fijadores del complemento específicos contra *Toxoplasma gondii* aparecen más tardíos que los observados en la prueba tintoreal. Se hace positiva a las 2 ó 4 semanas posteriores a la infección y se hace negativa pronto, después de la curación clínica.

REACCION DE MICROAGLUTINACION (MA). De introducción más reciente es simple y cómoda, por lo que es muy utilizada. Nunca debe emplearse sola. Los

anticuerpos que detecta (IgG e IgM) parecen ser similares a los de las pruebas de IFI y Prueba Tintoreal. Si se utiliza con 2-mercapto etanol tiene las mismas posibilidades que las pruebas de IFI-IqM.

INTRADERMO REACCION. Es la demostración de hipersensibilidad tardía, a través de la inoculación intradérmica de 0.1 ml de toxoplasmina, apareciendo a las 48 horas una zona de induración de 5 mm, que indica positividad. Es útil para encuestas epidemiológicas de reacciones positivas, pero no detecta las fases agudas de la enfermedad, apareciendo meses, o años después de la infección.

ELISA (Enzyme linked immunoabsorbent assay). Es una prueba sensible y específica. Se puede detectar IgG o IgM. En esta prueba las esferas recubiertas con el antígeno toxoplasma se incuban con muestras diluidas (controles, estándares y muestras de los pacientes). Durante esta incubación los anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, presentes en las muestras, se unen a las esferas. Después de la aspiración del material no unido y el lavado, las esferas se incuban con anti-IgG o anti-IqM humana obtenida en cabra conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRPO), el cual reacciona con el complejo antígeno anticuerpo en la esfera. El conjugado enzimático

no unido se aspira entonces y las esferas se lavan. A continuación se agrega una solución ortofenilendiamina (OPD) que contiene peróxido de hidrógeno a las esferas, y después de la incubación se desarrolla un color anaranjado en proporción a la cantidad de anticuerpos IgG o IgM contra *Toxoplasma gondii* unido a las esferas. La reacción enzimática se suspende agregando ácido sulfúrico 1 N. Los valores de absorción de las muestras se determinan usando un espectrofotómetro colocado a una longitud de onda de 492 nm. La presencia de anticuerpos de IgG o IgM contra *Toxoplasma gondii* puede detectarse en un índice o reportarse cuantitativamente en UI/ml. (2, 5, 6, 7, 8, 12, 15, 17, 19).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Es indispensable tomar en cuenta que:

-LA TOXOPLASMOSIS está considerada como una zoonosis de tipo universal que afecta tanto a animales como al hombre.

-Es elevada la prevalencia de esta infección en países donde se le ha investigado.

-El agente etiológico tiene una gran ubicuidad dentro del organismo.

-Es necesario investigar y actualizar los conocimientos sobre toxoplasmosis humana en nuestro país.

-La entrada del agente al organismo puede ser por las vías: oral, respiratoria, dérmica, transfusión sanguínea o trasplantes de órganos infectados.

-El principal problema médico es el riesgo perinatal. Aproximadamente el 30 % de los fetos pueden adquirir la infección en útero con una amplia gama de signos clínicos. Cuando la madre adquiere la infección durante el primer trimestre del embarazo el parásito puede atravesar la

placenta infectando al feto, y producir aborto; el niño incluso puede nacer a término, pero con lesiones severas o con infección latente.

Se analizan los siguientes hechos.

-En México no existe una comparación entre las técnicas más ampliamente utilizadas (IFI v ELISA) para determinar anticuerpos antitoxoplasma.

-Algunas técnicas para determinar anticuerpos son más sensibles y específicas que otras.

-La técnica de Inmunofluorescencia Indirecta es sensible, específica y reproducible en más de un 90 %, además corre paralela con la respuesta de anticuerpos en la prueba de Sabin y Feldman (Prueba Tintoreal). Puede dar falsos positivos ocasionados por la presencia de anticuerpos antinucleares, factor reumatoide, en pacientes con enfermedades del tejido conectivo y autoinmunes. Tiene la ventaja de detectar títulos muy bajos, comunes en las enfermedades coriorretinianas.

-La técnica de ELISA tiene una correlación mayor al 90 % comparada con Inmunofluorescencia Indirecta. La

interpretación de los títulos de anticuerpos con la técnica de ELISA es semejante a los obtenidos con las técnicas de Inmunofluorescencia Indirecta y Prueba Tintoreal; pero es incapaz de detectar cantidades muy pequeñas de anticuerpos presentes en algunos sueros. ya que éstos estarán en el rango de negatividad de 0-30 UI/ml. y en este rango se encuentran aquéllos que en IFI son positivos a títulos bajos.

IV. HIPOTESIS.

En un estudio para determinar anticuerpos antitoxoplasma por las técnicas de IFI y ELISA, los resultados serán similares, ya que ambas técnicas tienen sensibilidad y especificidad parecidas.

V. OBJETIVO.

Hacer una comparación entre las técnicas de IFI y ELISA para determinar anticuerpos antitoxoplasma.

VI. MATERIAL Y METODOS.

El material sérico fue obtenido de muestras de sangre total de la vena cubital de 150 pacientes: del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (80) y del Hospital Angeles del Pedregal (70). Se incluyó a hombres y mujeres sin importar raza ni edad. que por prescripción médica fueron a hacerse el estudio de detección de anticuerpos antitoxoplasma.

Se extrajeron de cada persona 5 ml de sangre a través de una jeringa de plástico, estéril, desechable, de 5 ml. marca B-D Plastipack; y aguja hipodérmica, estéril, desechable, calibre 21 x 32. Cada muestra se colocó en un tubo al vacío sin anticoagulante.

Una vez obtenida la muestra en el tubo, se rotuló éste con el nombre del paciente, se dejó en reposo durante 1 hora para permitir la retracción del coágulo y se desprendió éste con un aplicador estéril. Posteriormente, se centrifugó a 5000 rpm durante 10 minutos para sedimentar los eritrocitos que hubieran quedado en la muestra. Se separó el suero y se congeló para su posterior procesamiento.

Para el análisis de los sueros se utilizó la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), con antígeno obtenido a partir de trofozoítos de *Toxoplasma*

gondii. preparado en el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos y la técnica de ELISA con un equipo de Abbot Toxo-G EIA Diagnostic Kit en el Hospital Angeles del Pedregal.

TECNICA DE IFI.

1. De cada suero se realizaron diluciones seriadas con solución amortiguadora de fosfatos (PBS) pH 7.2 a partir de 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024. Si el suero presentaba anticuerpos antitoxoplasma a la dilución 1:1024 se seguían haciendo diluciones seriadas hasta 1:16384.

2. En un portaobjetos previamente marcado con círculos y conteniendo cada uno de ellos el antígeno de *Toxoplasma gondii*, se adicionó a cada círculo 10 μ cl de la dilución seleccionada del suero.

3. Cada portaobjetos fue introducido en una cámara húmeda, e incubado durante 30 minutos a una temperatura de 37 °C.

4. En seguida se lavaron los portaobjetos con PBS pH 7.2 y se secaron a temperatura ambiente.

5. Ya secos, se les agregó 10 μ cl de conjugado, constituido por globulina antihumana marcada con

isotiosianato de fluoresceína a una dilución de 1:512 y azul de Evans con una dilución de 1:100, ambos diluidos con PBS pH 7.2.

6. Los portaobjetos nuevamente se incubaron en cámara húmeda durante 30 minutos a una temperatura de 37 °C.

7. Transcurrido el tiempo fueron lavados durante 5 minutos con PBS pH 7.2 y secados a temperatura ambiente.

8. A los portaobjetos se les colocó una gota de glicerina y se cubrieron con un cubreobjetos para su lectura, la cual se realizó en un microscopio de epifluorescencia marca Carl-Zeiss con una lámpara de luz ultravioleta.

El criterio utilizado para determinar la positividad o negatividad de cada dilución fue el siguiente:

La reacción se consideró negativa cuando los parásitos se observaron de color rojo púrpura, sin fluorescencia verde amarilla o cuando la fluorescencia no abarcaba la periferia del parásito. La reacción se consideró positiva cuando la fluorescencia verde amarilla comprendió la periferia del parásito y correspondió a un título mayor o igual a 1:16.

TECNICA DE ELISA.

Primera incubación.

1. Se pipeteó 20 μ cl de cada control y cada muestra del paciente dentro de los tubos de dilución apropiados.
2. Se agregó 2.0 ml de tampón de dilución de muestras a cada tubo. Se mezcló.
3. Se pipeteó 200 μ cl de cada muestra diluida dentro de la cavidad apropiada de la placa de reacción.
4. Se agregó una esfera a cada cavidad.
5. Se cubrió con un folio adhesivo. Se golpeó la placa ligeramente.
6. La placa se incubó durante 60 minutos en un baño María a 37 $^{\circ}$ C.
7. El folio adhesivo se desechó. Se lavó cada esfera 3 veces con una cantidad de 4 a 6 ml de agua destilada o desionizada para un volumen total de lavado de 12 a 18 ml.

Segunda incubación.

8. Se agregó 200 μ l de conjugado enzimático a cada cavidad de reacción.

9. Con un nuevo folio adhesivo se cubrió. Se golpeó ligeramente la placa.

10. Se incubó durante 60 minutos en baño María a 37 °C

11. Se desechó el folio adhesivo. Se lavó cada esfera 3 veces con 4 a 6 ml. de agua destilada o desionizada para un volumen total de lavado de 12 a 18 ml.

12. Se eliminó todo el exceso de líquido de la placa por aspiración.

Desarrollo de color.

13. Cinco a diez minutos antes del desarrollo de color, se preparó la solución de sustrato de ortofenilendiamina (OPD).

14. Se transfirieron inmediatamente las esferas a los tubos de ensayo EIA.

15. Se agregó 300 μ l de solución de sustrato OPD a cada

tubo y a dos tubos vacíos (blancos de sustrato).

16. Se cubrieron e incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).

17. Se agregó 1.0 ml de ácido sulfúrico 1 N a cada tubo. Se agitó en el Vortex para mezclar.

18. Se ajustó el cero del espectrofotómetro. Se determinó la absorción de las muestras a 492 nm.

19. Los valores de absorción obtenidos se extrapolaron en la curva patrón para conocer la cantidad de anticuerpos antitoxoplasma presentes en el suero.

El criterio utilizado para determinar la positividad o negatividad de los sueros fue el siguiente:

La reacción se consideró negativa cuando se encontró de 0-30 UI/ml y positiva cuando las unidades internacionales por ml fueron mayores a 30 UI/ml.

VII. RESULTADOS.

En el cuadro y gráfica 1 se observa que de las 150 muestras procesadas, por la técnica de IFI 77 son negativas y 109 por la técnica de ELISA.

32 de las muestras negativas en la técnica de ELISA, fueron positivas en la técnica de IFI a diferentes títulos: 1:16 (22 muestras), 1:32 (6), 1:64 (3), 1:256 (1 muestra).

De las 6 muestras positivas en la técnica de ELISA que ocuparon el rango de 31 a 60 UI/ml. 2 presentaron un título de 1:32 y 4 un título 1:64 por la técnica de IFI.

De 6 muestras que en la técnica de ELISA se encontraron en el rango de 61 a 90 UI/ml. tuvieron un título de 1:32 (1), 1:64 (1) y 1:128 (4) por IFI.

Otras 3 muestras en la técnica de ELISA se encontraron en el rango de 91-120 UI/ml. y por IFI presentaron un título 1:32 (1), 1:256 (2).

En el rango de ELISA 121-150 UI/ml se encontró solo una muestra que en IFI presentó un título de 1:128.

De 4 muestras que en la técnica de ELISA se

encontraron en el rango de 151-180 UI/ml, en la técnica de IFI presentaron un título de 1:32 (1), 1:256 (1), 1:512 (2).

4 Muestras en la técnica de ELISA se encontraron en el rango 181-210 UI/ml y en la técnica de IFI presentaron un título de 1:256 (2), 1:512 (2).

Otras 2 muestras en la técnica de ELISA se encontraron en el rango 211-240 UI/ml y en la técnica de IFI presentaron un título de 1:256 (1), 1:512 (1).

En el rango de ELISA 241-270 se encontró solo una muestra que en IFI presentó un título de 1:512.

En el rango de 271-300 se encontró solo una muestra que en IFI presenta un título de 1:512.

13 Muestras en la técnica de ELISA se detectaron con mayor a 300 UI/ml y en la técnica de IFI se encuentran situadas a diferentes títulos que oscilan de 1:256 a 1:16384; 1:256 (1 muestra), 1:512 (2), 1:1024 (5), 1:2048 (2), 1:4096 (1), 1:8192 (1), 1:16384 (1).

En el cuadro y gráfica 2 se observa el porcentaje de seropositividad contra *Toxoplasma gondii* mediante la técnica de IFI, en esta técnica se encontró que de las 150 muestras procesadas 73 son positivas con una prevalencia

del 48.7 %; con respecto al título de anticuerpos, el título en el que más muestras se encontraron, fue en: 1:16 (22 muestras) con una prevalencia de 14.6 %, siguiendo en orden de frecuencia: 1:32 (11), 7.33 %; 1:64 (8), 5.33 %; 1:256 (9), 6.0 %; 1:512 (8), 5.33%.

En el cuadro y gráfica 3 se observa el porcentaje de seropositividad contra *Toxoplasma gondii* por la técnica de ELISA donde se puede ver que de las 150 muestras procesadas solo 41 son positivas con una prevalencia del 27.4 %. Con respecto al título de anticuerpos, las UI/ml en las que más se agruparon el total de las muestras fue en: mayor a 300 UI/ml con una prevalencia del 8.66 %.

En el cuadro y gráfica 4 podemos observar el porcentaje de muestras seropositivas a *Toxoplasma gondii* por las técnicas de IFI y ELISA encontrándose que de las 150 muestras procesadas, en la técnica de IFI 73 son positivas con una prevalencia de 48.3 % y en la técnica de ELISA 41 con una prevalencia de 27.3 %.

CUADRO 1
COMPARACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR LAS TECNICAS DE IFI Y ELISA EN EL
DIAGNOSTICO DE *Taxoplasma gondii*

IFI (TITULO)

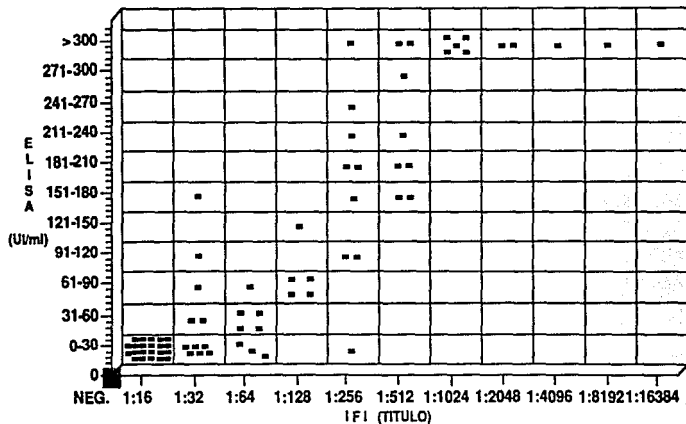
	NEG.	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096	1:8192	1:16384
0-30	77	22	6	3		1						
31-60			2	4								
61-90			1	1	4							
91-120			1			2						
121-150					1							
151-180			1			1	2					
181-210						2	2					
211-240						1	1					
241-270						1						
271-300							1					
mayor a 300						1	2	5	2	1	1	1

E
L
I
S
A

UI/ml

150 MUESTRAS PROCESADAS

COMPARACION DE LAS TECNICAS DE IFI Y ELISA EN EL
DIAGNOSTICO DE *Toxoplasma gondii*

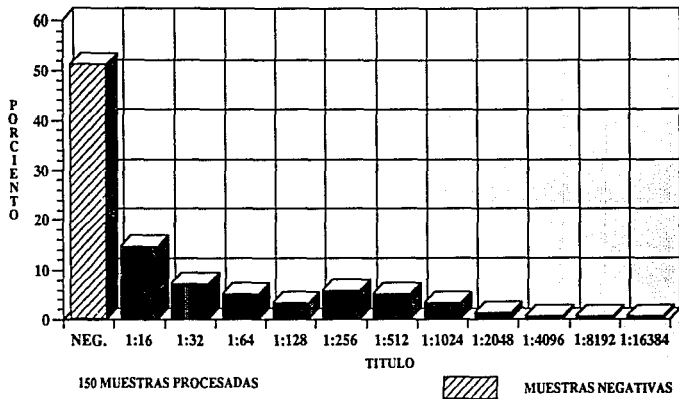


CUADRO 2
PORCIENTO DE SEROPOSITIVIDAD CONTRA *Toxoplasma gondii* MEDIANTE LA TECNICA DE IFI

Título	NEG.	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096	1:8192	1:16384
Número de muestras	77	22	11	8	5	9	8	5	2	1	1	1
Por ciento	51.33	14.66	7.33	5.33	3.33	6.0	5.33	3.33	1.33	0.66	0.66	0.66

150 MUESTRAS PROCESADAS

PORCIENTO DE SEROPOSITIVIDAD CONTRA *Toxoplasma gondii*
MEDIANTE LA TECNICA DE IFI



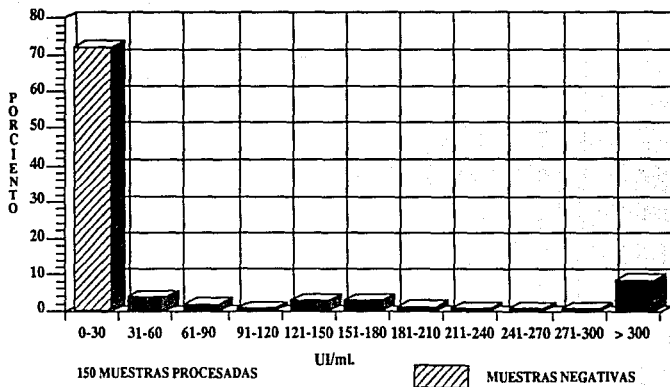
CUADRO 3
PORCIENTO DE SEROPOSITIVIDAD CONTRA *Toxoplasma gondii* MEDIANTE LA TECNICA DE ELISA

UI/ml	0-30	31-60	61-90	91-120	121-150	151-180	181-210	211-240	241-270	271-300	> 300
Número de muestras	109	6	6	3	1	4	4	2	1	1	13
Por ciento	72.6	4	2	0.66	2.66	2.66	1.33	0.66	0.66	0.66	8.66

150 MUESTRAS PROCESADAS

1

PORCIENTO DE SEROPOSITIVIDAD CONTRA *Toxoplasma gondii*
MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA

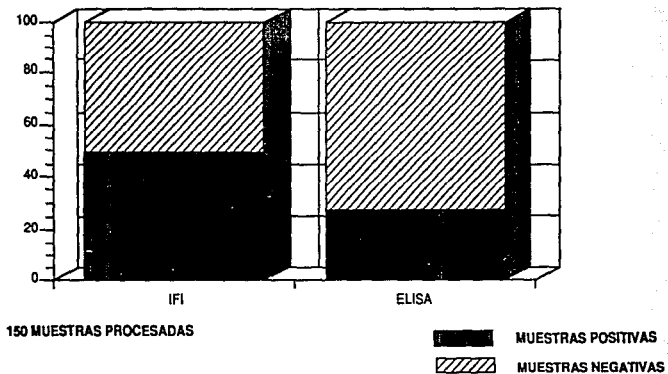


CUADRO 4
PORCIENTO DE SEROPOSITIVIDAD A *Toxoplasma gondii* POR LAS TÉCNICAS DE IFI Y ELISA

Técnica	IFI	ELISA
No. de muestras positivas	73	41
Por ciento	48.3	27.3

150 MUESTRAS PROCESADAS

PORCIENTO DE SEROPOSITIVIDAD A *Toxoplasma gondii*
POR LAS TÉCNICAS DE IFI Y ELISA



VIII. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

De las 150 muestras procesadas, se observa que tienen una correlación en positividad y negatividad por lo que se aplica la fórmula de correlación lineal:

$$r = \frac{n \cdot \sum xy - \sum x \cdot \sum y}{\sqrt{[n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2] \cdot [n \cdot \sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

Donde si r es igual a 1 o aproximadamente 1 esto quiere decir que existe una correlación entre ambas técnicas. Se hacen los cálculos y se obtiene r de 0.8385 con esto se concluye que la técnica de IFI tiene una correlación con la técnica de ELISA es decir que el título de anticuerpos encontrado en la técnica de IFI es aproximadamente proporcional a las UI/ml encontradas en la técnica de ELISA.

La técnica de ELISA detectó sueros positivos desde el título 1:32 de acuerdo con la técnica de IFI.

En los resultados obtenidos se observa que en la técnica de IFI, 73 muestras son positivas con una prevalencia de seropositividad de 48.3 % y en la técnica de ELISA 41 muestras con una prevalencia de 27.3 %.

Como se observa se encontró mayor seropositividad con la técnica de IFI que con la técnica de ELISA; esto puede

deberse, a la presencia de anticuerpos que cruzan con *Toxoplasma gondii*; como anticuerpos antinucleares, antifactor reumatoide u otro tipo de enfermedades autoinmunes. Sin embargo los pacientes con este tipo de enfermedades son poco comunes, por lo que si esto es cierto, el porcentaje de cruce carece de toda significancia. ELISA parece dar un gran porcentaje de falsos negativos debido a que el rango de negatividad dado por el equipo comercial Abbot Toxo-G EIA Diagnostic Kit (0-30 UI/ml) es muy alto, ya que se observó que en la técnica de IFI se detectaron anticuerpos desde títulos muy pequeños como 1:2 y en la técnica de ELISA sí se detecta reacción de anticuerpos pero caen en el rango de negatividad. Ya que como se dice en la introducción, Frenkel (9) aduce que un título de 1:2 debe ser considerado como positivo, pues en muchos pacientes con coriorretinitis toxoplasmica solo son positivos a esta dilución. Tomando en cuenta que el equipo comercial con el que se trabajo la técnica de ELISA esta hecho en Estados Unidos y las condiciones de vida son diferentes a las de México (higiene, alimentación, contacto con animales infectados, etc.), no puede tomarse el mismo rango de negatividad; debe hacerse un estudio para establecerlo en México.

El uso de la técnica de ELISA cuando se quiere evaluar la recuperación de un paciente que presenta títulos elevados de anticuerpos antitoxoplasma el espectrofotómetro

los detecta como igual o mayor a 300 UI/ml por tener como limitante la densidad óptica en este caso se debe hacer una dilución del suero y trabajar esta dilución en forma normal para conocer la cantidad exacta de UI/ml que presenta el suero.

IX. CONCLUSIONES.

Según los resultados obtenidos se concluye que ambas técnicas (IFI y ELISA) son buenas para detectar Toxoplasmosis.

La técnica de ELISA es más rápida para detectar anticuerpos antitoxoplasma.

La técnica de IFI puede dar falsos positivos por la presencia de anticuerpos antinucleares o factor reumatoide.

En la técnica de ELISA, cuando los títulos de anticuerpos son muy elevados los detecta como mayor a 300 UI/ml, si se quiere conocer la cantidad exacta de UI/ml se debe hacer una dilución al suero.

La técnica de IFI detecta anticuerpos antitoxoplasma a títulos muy bajos y muy altos.

La técnica de IFI y ELISA tuvieron una correlación del 83.85 % en el estudio realizado.

X. RESUMEN.

Se realizó una comparación entre las técnicas de IFI y ELISA para detectar anticuerpos antitoxoplasma Ig G de 150 pacientes: del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE), (80) y del Hospital Angeles del Pedregal, (70). Se incluyó a hombres y mujeres sin importar raza ni edad, que por prescripción médica fueron hacerse el estudio de detección de anticuerpos antitoxoplasma.

La técnica de IFI se trabajó en el INDRE con antígeno obtenido a partir de trofozoítos de *Toxoplasma gondii* en esta técnica se hicieron diluciones del suero desde 1:16 hasta 1:16384. La técnica de ELISA se trabajó en el Hospital Angeles del Pedregal con un equipo de Abbot Toxo-G EIA Diagnostic kit.

Los resultados obtenidos se compararon en un cuadro y gráfica donde se anotó el resultado detectado en IFI (título) y ELISA (UI/ml), obteniéndose los siguientes resultados:

De las 150 muestras procesadas, por la técnica de IFI 73 fueron positivas con una prevalencia de seropositividad de 48.6 % y en la técnica de ELISA, 41 con

una prevalencia de 27.3 %.

En la técnica de IFI de los 73 casos positivos el título de anticuerpos más comúnmente detectado fue en: 1:16 (22 muestras) con una prevalencia de 14.6 %, siguiendo en orden de frecuencia: 1:32 (11), 7.33 %; 1:64 (8), 5.33 %; 1:512 (8), 5.33 %.

En la técnica de ELISA de los 41 sueros positivos la cifra de UI/ml más común fue, mayor o igual a 300 UI/ml (13 muestras) con una prevalencia de 8.66 %.

XI. BIBLIOGRAFIA.

1. Mendoza G.F.D.: Encuesta Seroepidemiológica, para Detectar Toxoplasmosis en los Trabajadores de los Rastros de Ciudad Netzahualcoyotl en la Línea de Matanza. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México; México, D.F., 1987.

2. Tay. Z.J., Velasco. C.O., Lara. A. R., Gutiérrez. Q. M. Toxoplasmosis Pneumocistosis. En Parasitología Médica. 1a. edición. Ed. Méndez Cervantes. 1984, ps. 169-185.

3. Remington. J. S., and Desmonts. G., Toxoplasmosis In Infectious Diseases of de Fetus and Newborn Infant. J. S. Remington and J. O. Klein, eds. W. B. Saunders Co. Philadelphia 1976, ps. 191-332.

4. Fulton. J. D y Fulton. F. Complement-fixation test in toxoplasmosis. 205: 776-778. 1965.

5. Kumate. J. y Gutiérrez G., Manual de Infectología. Edit. Méndez Cervantes. 11a. edición. 1987. México, D. F. ps. 358-367.

6. Calderón, J. E. Conceptos Clínicos de Infectología Cuarta Edición. ed. Méndez Cervantes. 1977, ps. 1-12.

7. Chester, P. y Rodney. Parasitología Clínica. Ed. Salvat. Barcelona España. 1986. 2a. edición. ps. 179-184.
8. Calderón, J. E.; Dr. León, D. G. Interpretación de las Pruebas Inmunoserológicas para Diagnóstico de Toxoplasmosis. Infectología, Año V. 10: 258-260. 1985.
9. Frenkel J. La Inmunidad en la Toxoplasmosis. Bulletin of the American Health Organization. 20: 283-297. 1986.
10. Anderson, S. E., and Remington, J. S., The Diagnosis of Toxoplasmosis. Southern Med. J. 68: 1433-1443. 1975.
11. Blanco, G. Y.: Toxoplasmosis en Motzorongo, Veracruz (Estudio Seroepidemiológico). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana; Orizaba, Ver. 1988.
12. Pumarola, A., Torres, A. y Cols. Microbiología y Parasitología Médica. Ed. Salvat. Barcelona España. 1984, 1a. edición. ps. 796-804.
13. Roch, E. U. Compendio de Toxoplasmosis. Ed. Patria. S.A. México. 1971. 1a edición. ps. 7-144.

14. Sabin, A. B. and Feldman, H. A., Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science. 108: 660-663. 1948.

15. Kelen, A. E., Ayllon-Leindl, L., and Labzoff Sky, N. A., Indirect fluorescent antibody method in serodiagnosis of toxoplasmosis. Can. J. Microbiol. 8: 545-554. 1962.

16. Sulzer, A. J., and Hall, E. C., Indirect fluorescent antibody test for parasitic diseases. IV. Statistical study of variation in the indirect fluorescent antibody (IFA) test for toxoplasmosis. Amer. J. Epidemiol. 86: 401-407. 1967.

17. Bullock, S. L., and Walls, K. W., Evaluation of some of the parameters of the enzyme-linked immunospecific assay J. Inf. Dis. (Suppl.). 136: S 279-S 285. 1977.

18. Hernández, R. N. L.; Sánchez, O.M.A. Prevalencia de Seropositividad a *Toxoplasma gondii* en el binomio madre hijo en relación al parto. Tesis de Licenciatura, Escuela de Medicina y Cirugía, Universidad Regional del Sureste A. C., Oaxaca, Oax. 1988.

19. Calderón, J. E.: Toxoplasmosis en Infectología. Eds. Etal. Ed. Francisco. M. C., México, D.F., 1978. ps. 89-110.

20. Bonfante-Garrido, y cols. Toxoplasmosis en pacientes de 14 estados de Venezuela. Bol. of. Sanit. Panam. 96: 502-508. 1984.

21. Leyva, C. A. Toxoplasmosis. Rev. Cub. Mex. Trop. 31: 141-158. 1979.

22. Secretaría de Salubridad y Asistencia. Toxoplasmosis. En: Control de enfermedades transmisibles. 2a. ed. S.S.A. 1975. ps. 417-423.

23. Díaz, O. J y Vaca, M. M. Evolución y epidemiología de la toxoplasmosis. Infectología. 6: 146-152. 1985.

24. Frenkel, J.K and Dubey, J. P.: *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocyst. Science. 167: 893-899. 1970.

25. Frenkel, J. K. Pathology and pathogenesis of congenital toxoplasmosis. Bull N. Y. Acad. Sci. 50: 182-191. 1974.

26. Feldman, H. A. Toxoplasmosis. En: Nelson, E., Vaughan, C., Mc. Kay, J. Tratado de Pediatría. 6a. ed. Salvat Editores. 1975: 1:757-760.

27. Sosa, M. J., Isita, S. L., Sosa, M. R., Guzmán C. H. Reproducción de *Toxoplasma gondii* en cultivos de tejidos. *Infectología*. 9: 425-434. 1983.
28. Carrada, B. T. La Toxoplasmosis: problema de salud pública. Avances y perspectivas. *Bol. Med. Hosp. Infan. Mex.* 40: 353-362. 1983.
29. Cacerols, M. A. Toxoplasmosis. *Medicine*. 38: 2522-2528. 1988.
30. Calderón, J. E. Respuesta inmune a la toxoplasmosis. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 43: 658-661. 1986.
31. Isita, T. L., Isita, S. L. Potencial evasivo de *T. gondii* a la respuesta inmunitaria del huésped. *Infectología*. 8: 31-36. 1988.
32. Herrera, M. J. La toxoplasmosis como riesgo perinatal. *Infectología*. II: 669-670. 1982.
33. Bowry, T. R., Camargo, E. M., Kinyanjui, M. Sero-epidemiology of *Toxoplasma gondii* in young children-in-Nairobi, Kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 80: 439-441. 1986.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

34. Carrillo, C. C. Toxoplasmosis en donadores de sangre.
Rev. Med. Hosp. General. 25: 295-297. 1962.

35. Fernández, T. M., Sibaja, C. M., Granier, M. A. Encuesta
Seroepidemiológica de anticuerpos anti-Toxoplasma gondii en
125 mujeres embarazadas del oriente del Estado de Tabasco.
Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 43: 274-277. 1986.

36. Schenone, H. Contreras, M. C., Salinas, P., Sandoval, L.,
Peña, A. M., Rodríguez, H., Villareal, F., Rojas, A.
Epidemiología de la Toxoplasmosis en Chile. Z.-Prevalencia de
la infección humana, estudiada mediante la reacción de
hemaqlutinación indirecta en las tres primeras regiones.
1982-85. Bol. Chil. Parasit. 41: 36-39. 1986.

37. Velasco, C. O., y Cols. Seroepidemiología de la
toxoplasmosis y tripanosomiasis americana en la Zanja, Mpio.
de Acapulco. Gue. Mex. Bioquímica. IX: 71. 1987.

38. Velasco, C. O., y Cols. Prevalencia de Toxoplasmosis en
una comunidad indígena de Oaxaca. Bioquímica. IX: 71. 1987.

39. Chaura, M. B., Gupta, S. L., Gutam, O. P. Toxoplasma
seroprevalence in animals in northern India. Int. J.
Zoonoses. 12: 136-142. 1985.

40. Leite, L. N., Mizuno, I. M., Hyakutake, S. Prevalencia de toxoplasmosis equina avaliada pela técnica de imunofluorescencia indirecta. Mata Grosso dosul, Brasil. Bol. of. Sanit. Panam. 99: 158-162. 1985.

41. Montoya, M.E., Ramirez, E. L., Loaiza, H. A., Henao, C. J., Murillo, G. G. Prevalencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* en bovinos y porcinos. Bol. of. Sanit. Panam. 91: 219-225. 1981.

42. Morlay, R. S., James, F. Toxoplasmosis en ganado ovino y caprino en Dominicana. Bol. of. Sanit. Panam. 86: 163-164. 1980.

43. Anónimo. Toxoplasmosis porcina. 4.-Estimación de la prevalencia de la infección toxoplasmica en cerdos por la prueba de inmunofluorescencia indirecta y hemaqlutinación. Bol. Sanit. of. Panam. Resumen. 100: 649. 1986.

44. Bowman, C. W., Rand, J. M. Quimioterapia de las infecciones por protozoarios. En: Farmacología. 2a. ed. Interamericana. 1985: 36.8-36.13.

45. Brown, W. H. Protozoarios de la Sangre y tejidos del hombre. En: Parasitología Clínica. 3a. ed. Interamericana. 1970: 77-81.

46. Suárez, H. M. y Cols. Diagnóstico serológico de las formas ganqlionares de la Toxoplasmosis. Rev. Cub. Med. Trop. 38: 209-215. 1986.

47. García, R. J., Alvarez, Ch. R., Salazar, L. A. Toxoplasmosis ocular en niños. Estudio de 33 casos. Bol. Med. Hosp. Infan. Mex. 43: 769-772. 1986.

48. Wrightt, T. G., Gray, J. J., Balfour, A. H., Problems with Serological Diagnosis of *Toxoplasma gondii* infections in heart transplant recipients. J. Clin. Pathol. 39: 1135-1139. 1986.

46. Suárez, H. M. y Cols. Diagnóstico serológico de las formas ganqlionares de la Toxoplasmosis. Rev. Cub. Med. Trop. 38: 209-215. 1986.

47. García, R. J., Alvarez, Ch. R., Salazar, L. A. Toxoplasmosis ocular en niños. Estudio de 33 casos. Bol. Med. Hosp. Infan. Mex. 43: 769-772. 1986.

48. Wrightt, T. G., Gray, J. J., Balfour, A. H., Problems with Serological Diagnosis of *Toxoplasma gondii* infections in heart transplant recipients. J. Clin. Pathol. 39: 1135-1139. 1986.